

Über den Einfluß von Ethinylöstradiol auf die
durch Tetracyclin verursachten Veränderungen
des Lebergewichtes, des Serumharnstoffes sowie
der Transaminasen und der alkalischen Phosphatase
im Serum weiblicher Mäuse

von
Werner Schramm
aus
Leupoldsgrün

1403
—

1983 № 109



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Pharmakologie und Toxikologie

Lehrstuhl für Toxikologie und Pharmakologie

der Universität Erlangen - Nürnberg

Direktor: Professor Dr. C.-J. Estler

Über den Einfluß von Ethinylöstradiol auf die
durch Tetracyclin verursachten Veränderungen
des Lebergewichtes, des Serumharnstoffes sowie
der Transaminasen und der alkalischen Phosphatase
im Serum weiblicher Mäuse

INAUGURAL – DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde

der Medizinischen Fakultät

der Friedrich - Alexander - Universität

Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

Werner Schramm

aus

Leupoldsgrün

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. V. Becker

Referent: Prof. Dr. C.-J. Estler

Tag der mündlichen Prüfung: 28.02.1983

Inhaltsverzeichnis

Die Tetracycline	1
1. Geschichte und Charakterisierung	1
2. Pharmakokinetik	1
3. Wirkungsspektrum und Resistenz	3
4. Wirkungen	5
5. Unerwünschte Wirkungen und Toxizität	6
Methodik	14
1. Versuchstiere	14
2. Verwendete Substanzen	14
a) Ethinylöstradiol	14
b) Tetracyclin	15
3. Versuche	15
a) Allgemeine Vorbemerkungen	15
b) Dosierung der Pharmaka	15
c) Vorversuch	16
d) Hauptversuch	17
4. Gewinnung des Untersuchungsmaterials	18
a) Serumgewinnung	18
b) Herstellung der Leberhomogenate	18

5. Untersuchungen	19
a) Relatives Lebergewicht und Leberwassergehalt	19
b) Aktivitäten der GPT, GOT und AP im Serum sowie die Serumharn- stoffkonzentration	19
6. Maßeinheiten der bestimmten Parameter	22
7. Statistische Verfahren	22
 Ergebnisse	 25
1. Vorversuch	25
2. Hauptversuch	26
a) Ethinylöstradiol	26
b) Tetracyclin	27
c) Ethinylöstradiol + Tetracyclin	28
 Diskussion	 31
 Zusammenfassung	 38
 Ergebnisse des Vorversuches in graphischer Darstellung	 41
 Ergebnisse des Hauptversuches in graphischer Darstellung	 44

Die Tetracycline

1. Geschichte und Charakterisierung

Der erste Vertreter dieser Antibiotikaklasse, das 7-Chlor-Tetracyclin, wurde 1947 aus dem Kulturfiltrat von *Streptomyces aureofaciens* isoliert (68). 1953 gelang es, durch reduktive Abspaltung des Chloratoms den antibiotisch wirksamen Grundkörper, das Tetracyclin (Abb.1), zu erhalten (68).

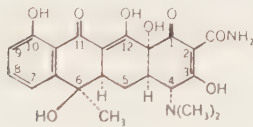


Abb.1: Strukturformel des Tetracyclin

Bei allen Tetracyclinen handelt es sich um Abkömmlinge des Naphthacens, eines polycyclischen Kohlenwasserstoffs mit chelatbildender Struktur und amphoteren Eigenschaften.

2. Pharmakokinetik

Die heute gebräuchlichen Präparate unterscheiden sich vor allem in ihrer Kinetik, d.h. ihrer Resorp-

Tab.1 Tetracycline: Resorptionsrate nach oraler Gabe, Halbwertszeit(HWZ), Eiweißbindung(EB) (25).

	Resorption	HWZ	EB
	%	h	%
Tetracyclin	80	8,5	25
Oxytetracyclin	60	9	25
Chlortetracyclin	30	5,5	65
Demethylchlortetracyclin	60	15	60
Methacyclin	60	15	80
Doxycyclin	90	20	85
Minocyclin	90	16	75
Rolitetraeyclin	--	8	50

tionsrate nach oraler Gabe, Halbwertszeit und Eiweißbindung (Tab.1). Sie verteilen sich im ganzen Organismus mit Ausnahme des Fettgewebes und besitzen eine besondere Affinität zu Geweben mit einer hohen Stoffwechsel- oder Wachstumsrate (25). Während sie die Placenta leicht passieren, ist ihre Liquorgängigkeit gering (25). Ob und wie weit Tetracycline metabolisiert werden, ist noch weitgehend ungeklärt (25). Lediglich für Minocyclin wurde vor kurzem eine

Metabolisierung nachgewiesen (56). Die Ausscheidung der Tetracycline erfolgt vor allem über Leber und Niere.

Bei Oligurie verlängert sich die Halbwertszeit von Tetracyclin im Serum auf 50 - > 100 Stunden (57). Eine Ausnahme bildet nach Fabre (22) das Doxycyclin; es kann auch bei Niereninsuffizienz eingesetzt werden.

Bei normaler Leberfunktion erreichen die Konzentrationen der klassischen Tetracycline in der Gallenflüssigkeit hohe Werte: Tetracyclin erbringt das 5- bis 10-fache der Serumkonzentration (43). Die Gallenkonzentrationen verlaufen parallel zu den Serumkonzentrationen (22). Bei Leberfunktionsstörungen und Obstruktionen der Gallengänge muß mit erhöhten und verlängerten Serumspiegeln gerechnet werden (68).

3. Wirkungsspektrum und Resistenz

Das Wirkungsspektrum ist für alle Tetracycline annähernd gleich und unter Berücksichtigung klinischer Gesichtspunkte in Tab. 2 wiedergegeben. Mit resistenten Stämmen muß im gesamten Bereich des Wirkungsspektrums gerechnet werden.

Tab.2 Klinisch wichtiges antibakterielles
Wirkungsspektrum der Tetracycline
modifiziert nach (80)

Gram-positive Bakterien	Gram-negative Bakterien
Wirksam bei:	Wirksam bei:
Pneumokokken	Gonokokken
Staphylokokken	Meningokokken
Streptokokken	
	E.coli
Listerien	Klebsiellen
	Shigellen
	Vibrio cholerae
	Brucellaceae
	Bacteroides
Nicht wirksam bei:	Nicht wirksam bei:
Clostridien	Salmonellen
	Proteus
	Pseudomonas

Tab.2 Klinisch wichtiges antibakterielles
Wirkungsspektrum der Tetracycline
modifiziert nach (80)

Nicht nach Gram klassifizierbar

Wirksam bei:

Chlamydien	Borelien
Mykoplasmen	Treponemen
Rickettsien	Leptospiren

4. Wirkungen

Die bakteriostatische Wirkung der Tetracycline erstreckt sich sowohl auf intra- als auch auf extrazellulär gelegene Keime (25) und liegt in der Hemmung der Proteinbiosynthese auf der Stufe der Anlagerung der Aminoacyl-t-RNA an die 30-S-Untereinheit der prokaryontischen 70 -S-Ribosomen begründet (14).

Verschiedene Autoren (16,26,27,61,72) berichteten, daß die Tetracycline in geringem Maße auch die Eiweißsynthese an eukaryontischen 80-S-Ribosomen hemmen, so daß z.B. die Leberzellen von Säugetieren ebenfalls katabol beeinflußt werden. Neuere Unter-

suchungen am Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Universität Erlangen-Nürnberg zeigten, daß es unter Tetracyclineinfluß auch zu einer Desaggregation von Polysomen (Verbindung von m-RNA mit mehreren Ribosomen) kommt (8). Nach Hamner (33) antagonisieren 2- und 3-wertige metallische Kationen durch Chelatwirkung die antibakterielle Tetracyclinwirkung. Die hemmende Wirkung der Tetracycline auf die Atmungskette und die Fettsäureoxidation erklärte Weinberg (77) mit den komplexbildenden Eigenschaften dieser Verbindungen.

5. Unerwünschte Nebenwirkungen und Toxizität

Alle Tetracycline haben praktisch identische Nebenwirkungen (Tab.3). Die nachfolgenden Betrachtungen beschränken sich auf die Hepatotoxizität der Tetracycline, die sich vor allem in Form eines eiweißkatabolen Effektes (21,39,50,63,72,81) und einer vermehrten Fetteinlagerung in die Leber manifestiert (3,15,17,21,62,66,79).

Tetracyclininduzierte Fettlebern konnten Lepper et al (44) schon 1951 bei Tieren beobachten. Diese ersten Beobachtungen konnten später von anderen Autoren bestätigt werden, Breen et al (10,11,12),

Estler & Böcker (20), Hansen et al (34), Lewis et al (46), Böcker et al (5), Seto & Lepper (69). Die meisten Autoren nehmen an, daß die Hauptursache der Leberverfettung in einer Störung der Ausschüttung von Triglyceriden in Form von VLDL aus den Hepatozyten zu suchen sei. Leberschädigungen mit fettiger Degeneration und Nekrosen wurden auch beim Menschen nach intravenöser Applikation hoher Tetracyclindosen beobachtet (17,31,66,79).

Tab.3 Unerwünschte Tetracyclinwirkungen
modifiziert nach (32)

1. Gastrointestinale Störungen:
Übelkeit, Erbrechen, Durchfälle
2. Lokale Reizerscheinungen der Schleimhäute:
Stomatitis, Glossitis, Pruritus ani etc
3. Einlagerung in Knochen, Zähne, Nägel:
irreversible Gelbfärbung der Zähne bei Gabe
während der Mineralisationsphase des Gebisses
4. Leberschäden
5. Katabolie mit Rest-N-Erhöhung besonders bei
Niereninsuffizienz
6. Photodermatosen
7. Allergische Reaktionen

Andere Parameter einer durch Tetracyclin verursachten Leberschädigung sind Erhöhungen des Harnstoffgehaltes und der Transaminasen im Serum (1,6,9,15,18,21,39,49,52,53,59,70,72,79).

Acosta (1) fand im Kulturmedium von Zellkulturen aus Rattenlebern dosisabhängige Vermehrungen der GOT und GPT nach Tetracyclineinwirkung. Ebenfalls dosisabhängige Transaminasenanstiege im Serum beobachteten Shauer et al (70) und Miller et al (52) nach intravenöser Gabe des Antibioticums bei Ratten. Entsprechende Befunde erhoben Böcker et al (6) bei NMRI-Mäusen.

Der Anstieg des Serumharnstoffspiegels nach Tetracyclinbelastung wird entweder auf den antianabolen Effekt des Medikamentes auf die Leber oder eine verminderte Harnstoffausscheidung durch die Nieren zurückgeführt (26,81).

Besonders anfällig gegenüber der durch Tetracycline verursachten Leberschädigung scheinen Frauen in der Gravidität bzw. mit erhöhtem Östrogenspiegel zu sein. Schultz et al (66) berichteten von sechs schwangeren Frauen, die wegen Pyelonephritis hohe Dosen Tetracyclin erhielten und alle eine Leberverfettung entwickelten, die sich von der üblichen Schwangerschaftsleberverfettung, wie sie von

Sheehan (71) beschrieben wurde, unterschied.

Ähnliches berichteten Davis et al (15), Whalley et al (78) und Kunelis et al (42). Kunelis et al (42) kamen zu folgenden Folgerungen:

1. Es besteht die Möglichkeit, daß die Leber während der Schwangerschaft empfindlicher gegenüber Substanzen ist, die den Proteinanabolismus hemmen (z.B. Tetracycline),
2. es bleibt die Frage, ob die vorbestehende Pylonephritis zu einer Schwangerschaftsleberverfettung prädisponiert, und
3. es bleibt offen, ob diese Verfettung in der Schwangerschaft idiopathisch oder mit Tetracyclin assoziiert ist.

Hinweise auf die Möglichkeit eines Zusammenhanges dieser Erscheinungen mit der Höhe des Östrogenspiegels lieferten tierexperimentelle Arbeiten von Breen et al (11). Die Tatsache, daß in Versuchen von Böcker et al (5,6) sowie Estler & Böcker (20) weibliche Mäuse deutlich empfindlicher auf Tetracycline reagierten und stärkere Leberfunktionsstörungen aufwiesen als männliche Tiere, ließ daran denken, daß möglicherweise weibliche Sexualhormone einen permissiven Effekt auf die hepatotoxische Wirkung der Tetracycline besitzen. Hierauf haben

auch Untersuchungen von Götz (30) erste Hinweise gegeben.

Aufgrund ihrer klinischen Erfahrung empfahlen Dowling und Lepper (17) z.B. keine Dosierung über 2g/Tag i.v., keine Behandlung Schwangerer mit Tetracyclinen und keine Kombination mit anderen bekannt lebertoxischen Medikamenten.

Der Frage nach einem etwa bestehenden Synergismus zwischen Tetracyclinen und weiblichen Sexualhormonen sollte in der vorliegenden Arbeit näher nachgegangen werden, u.U. auch im Hinblick darauf, daß zahlreiche Frauen ständig solche Hormone bzw. deren Derivate in Form von Antikonzeptiva einnehmen und dadurch Interaktionen von Antikonzeptiva und Tetracyclinen möglicherweise auch für die Klinik relevant sein können.

Die Versuche wurden an weiblichen Mäusen durchgeführt. Als Vertreter der Tetracycline wurde Tetracyclin selbst gewählt, da diese Verbindung innerhalb der Gruppe der Tetracycline eine relativ hohe Hepatotoxizität aufweist, so daß zu erwarten war, daß Interaktionen sich bei dieser Substanz in erster Linie manifestieren würden. Als Östrogen wurde das in Antikonzeptiva bevorzugte Ethinylöstradiol ver-

wendet, das selbst eine gewisse Hepatotoxizität besitzt.

Bei Ratten erhöhen 1 mg Östradiol/tägl. das Lebergewicht (28) und in Dosen zwischen 0,3 und 3mg/Tag führen natürliche Östrogene nach längerer Behandlungsdauer zu fettiger Infiltration und Nekrose der Leber (40,67). Ethinylöstradiol senkt den Gallenfluß signifikant (35,37,41), wahrscheinlich durch Hemmung der Gallensalzausscheidung auf dem Niveau der Hepatozyten (58). Gleichzeitig steigert es die Rückdiffusion gallepflichtiger Substanzen ins Plasma (24,58). Nach viertägiger intravenöser Gabe von 1 mg/kg Ethinylöstradiol zeigt sich bei Mäusen eine deutliche Leberaffektion, erkennbar an Erhöhungen der S-GPT und der Bromsulfaleinretention (30). Über erhöhte Werte für die alkalische Phosphatase, die Transaminasen, das Bilirubin sowie die Bromsulfaleinretention und eine Abnahme des Albumins und der Cholinesteraseaktivität sowie den Extremfall der intrahepatischen Cholestase berichteten verschiedene Autoren (2,38,47,51,54).

Als Parameter für eine Leberschädigung wurden bestimmt: das relative Lebergewicht, der Serumharnstoff, die Transaminasen (GOT und GPT) sowie die alkalische Phosphatase im Serum.

Das relative Lebergewicht (Frischgewicht und Trockengewicht) kann Aufschluß über anabole und katabole Vorgänge sowie auf pathologische Veränderungen im Sinne einer vermehrten Wassereinlagerung in das Organ geben. Die Transaminasen gehören zu den Zellenzymen, wobei die GPT nur extramitochondrial im Zytoplasma und die GOT im Zytoplasma und in den Mitochondrien lokalisiert ist (36). Die GOT ist vor allem in der Leber, Herz- und Skelettmuskulatur, in Niere, Gehirn und Erythrozyten nachweisbar, während die GPT in höheren Aktivitäten vorwiegend in der Leberzelle zu finden ist (Tab. 4) (36). Der Übertritt von Zellenzymen ist ein empfindlicher Indikator für eine Zellschädigung.

Alkalische Phosphatasen hydrolisieren organische Phosphorverbindungen. Isoenzyme finden sich in Knochen, Dünndarm und Leber, dort auch in den Endothelzellen der Gallenkapillaren. Der Serumspiegel wird durch die Enzymproduktion vor allem im Knochen und die Exkretion über die Gallenwege bestimmt. Entsprechend kommt es zu erhöhten Serumaktivitäten bei osteoblastischen Knochenprozessen und Cholestase (36).

Der Harnstoff ist das Endprodukt des Protein- und Aminosäurestoffwechsels. Seine Bildung ist

beim Säuger eine Syntheseleistung der Leber.

Die Harnstoffkonzentration im Serum hängt aber auch ab von der Eiweißzufuhr, dem Katabolismus bzw. Anabolismus in der Leber sowie von der Harnstoffausscheidung über die Nieren. Der Serumharnstoffspiegel ist damit ein Indikator für die Leber- und Nierenfunktion.

Tab.4 Enzymaktivitäten in U/g Frischgewicht (65)

	Leber	Herz	Muskulatur	Erythrozyten
GPT	60	3	3	0,1
GOT	96	52	36	0,8

Methodik

1. Versuchstiere

Für die Versuche wurden geschlechtsreife, weibliche NMRI-Mäuse mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 25 g verwendet, die zu Gruppen von 10 bis 15 in Kunststoffkäfigen gehalten und mit Standardpressfutter (Herilan) und Wasser ad libitum ernährt wurden. Die Tiere wurden einem konstanten Tag/Nacht-Rhythmus von 12 zu 12 Stunden ausgesetzt.

2. Verwendete Substanzen

a) Als Hormonomimeticum diente das 1938 erstmals synthetisierte Ethinylöstradiol (Abb.2), das wir in kristalliner Reinform von der Firma Schering AG, Berlin, bezogen.

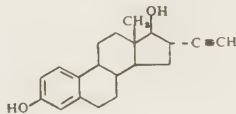


Abb.2: Strukturformel des Ethinylöstradiol

Die pro kg Körpergewicht subcutan injizierte Menge der Wirksubstanz war in jeweils 10 ml Olivenöl (nach DAB 7) gelöst.

b) Tetracyclin erhielten wir als Trockenpulver von der Firma Hoechst. Die pro kg Körpergewicht zu verabreichende Menge des Antibioticums wurde in 10 ml 1,5 mM $MgSO_4$ -Lösung gelöst. Von dieser Lösung wurden 0,01 ml/g Körpergewicht intravenös in eine Schwanzvene injiziert.

3. Versuche

a) Allgemeine Vorbemerkungen

Zur Vermeidung jahreszeitlicher Stoffwechselschwankungen fanden alle Versuche im Zeitraum Mai bis August 1980 statt. Mit Rücksicht auf die circadiane Rhythmik der Tiere erfolgten alle Pharmakagaben morgens zwischen 7 und 8 Uhr. Die mitgeführten Kontrollgruppen unterlagen stets gleichen Bedingungen.

b) Dosierung der Pharmaka

Für Tetracyclin wurde eine Dosis verwendet, die sich in früheren, unter analogen Bedingungen durchgeführten Versuchen von Böcker et al (6) als

submaximal hepatotoxisch erwiesen hatte. Sie betrug 50 mg/kg i.v. Mit dieser Dosis sollten sowohl synergistische als auch antagonistische Aktionseffekte gut erkennbar sein. Da sich herausstellte, daß häufig antagonistische Effekte auftraten, wurde zusätzlich eine Dosis von 100 mg/kg Tetracyclin i.v. eingesetzt, in der Absicht, solche Antagonismen deutlicher werden zu lassen.

Auch Ethinylöstradiol sollte in submaximal toxischer Menge verabreicht werden, um Wechselwirkungen mit Tetracyclin gut erkennen zu können. Deshalb waren zur Dosisfindung und der Bestimmung des Applikationsmodus (Dauer der Verabreichung) des Ethinylöstradiol Vorversuche erforderlich mit dem Ziel, eine Dosis-Wirkungsbeziehung zu erarbeiten. Aufgrund von Vorversuchen, in denen unter der Einwirkung von Ethinylöstradiol das Lebergewicht, die Transaminasen, die alkalische Phosphatase und der Harnstoffgehalt des Serums bestimmt wurden, ermittelten wir eine Dosis von 0,5 mg/kg Ethinylöstradiol, die, vier Tage lang subcutan verabreicht, den oben genannten Anforderungen entsprach.

c) Vorversuch

Jeweils 15 Mäuse wurden vier Tage lang mit 0,5 , 1,0 sowie 5,0 mg/kg Ethinylöstradiol gelöst

in Olivenöl s.c. behandelt. Eine Kontrollgruppe von zehn Tieren erhielt über den gleichen Zeitraum das gleiche Volumen Olivenöl s.c.

Die Bestimmung der blutchemischen Parameter und des relativen Lebergewichtes erfolgten am 5. Tag. Tabelle 5 veranschaulicht das Vorgehen.

d) Hauptversuch

Ziel dieser Versuchsreihe war es, mittels einer Zeit-Wirkungsbeziehung nach Antibioticumgabe Wechselwirkungen zwischen Ethinylöstradiol und Tetracyclin herauszufinden. Zu diesem Zweck wurden Tiere vier Tage lang mit Ethinylöstradiol s.c. vorbehandelt und erhielten am 5. Tag Tetracyclin intravenös. Für Kontrollzwecke wurden die gleichen Pharmaka bzw. deren Lösungsmittel auch einzeln verabreicht.

Das Behandlungsschema zeigt Tabelle 6.

Um Aussagen über eine mögliche Zeitabhängigkeit der auftretenden Veränderungen machen zu können, bestimmten wir die blutchemischen Parameter, das relative Lebergewicht und das Lebertrockengewicht bzw. den Wassergehalt der Leber 2, 4, 8, 24 und 48 Stunden nach intravenöser Injektion des Tetracyclin bzw. der 1,5 mM $MgSO_4$ -Lösung. Für die Dosis von 100 mg/kg Tetracyclin i.v. wurde

auf den 8-Stunden-Wert verzichtet.

4. Gewinnung des Untersuchungsmaterials

Zur Beurteilung der Hepatotoxizität wurden blut-chemische Untersuchungen durchgeführt sowie das relative Lebergewicht und der Wassergehalt der Leber bestimmt.

a) Serumgewinnung

Zu den oben angegebenen Zeiten wurden die Tiere gewogen, anschließend decapitiert, entblutet und das Blut ohne Zusatz von Gerinnungshemmern bei 3000 bis 4000 U/min. zehn Minuten lang zentrifugiert. Das gewonnene Serum wurde am gleichen Tag weiterverarbeitet.

b) Herstellung der Leberhomogenate

Nach der Blutentnahme wurde den Mäusen die Leber herauspräpariert, gewogen und bei -20° C aufbewahrt. Zur Homogenisierung wurde den aufgetauten Lebern eine Probe entnommen und diese nach Hinzugabe von neun Teilen 0,9 %iger NaCl-Lösung im Ultra-Turrax^R homogenisiert, so daß eine Verdünnung von 1:10 vorlag. Der durch das Einfrieren erlittene Wasserverlust der Lebern war vernachlässigbar klein und

wurde deshalb nicht weiter berücksichtigt.

5. Untersuchungen

a) Es wurden das relative Lebergewicht und der Wassergehalt der Leber bestimmt.

Relatives Lebergewicht = $\frac{\text{Leber-}}{\text{Körpergewicht}}$
Wie Götz (30) mit dem Verfahren von Brunner et al. (13) zeigen konnte, besteht zwischen dem Leber- und Körpergewicht der Mäuse ein Korrelationsfaktor zwischen 0,84 und 0,95, so daß Lebermassenveränderungen gut mit diesem Quotienten erfaßt werden können.

Um zwischen Wassereinlagerung und tatsächlicher Substanzvermehrung differenzieren zu können, bestimmten wir den Wassergehalt.

Hierfür wurde 1 ml des Leberhomogenates bis zur Gewichtskonstanz eingedampft und so das Trockengewicht ermittelt. Der artefizielle Kochsalzgehalt wurde entsprechend berücksichtigt.

b) Im Serum wurden die Aktivitäten der Glutamat-Pyruvat-Transaminase (S-GPT), der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (S-GOT) und der alkalischen

Phosphatase (S-AP) sowie die Harnstoffkonzentration gemessen.

Transaminasen und alkalische Phosphatase wurden nach der "Optimierten Standard-Methode" der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie (19) mit den entsprechenden Test-Kombinationen der Firma Boehringer Mannheim GmbH nach Vorschrift bestimmt. Gemessen wurde mit dem Spektralphotometer PM 6 der Firma Zeiss.

Verwendete Meßstrahlung und benötigte Serummengen:

Enzym	Wellenlänge	Serummenge
S-GPT	340 nm	50 µl
S-GOT	340 nm	50 µl
S-AP	405 nm	25 µl

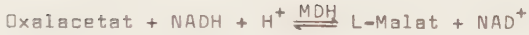
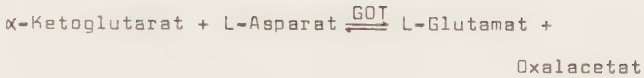
Test-Prinzipien:

S-GPT

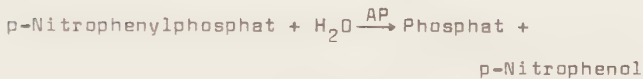
α -Ketoglutarat + L-Alanin $\xrightleftharpoons{\text{GPT}}$ L-Glutamat + Pyruvat

Pyruvat + NADH + H⁺ $\xrightleftharpoons{\text{LDH}}$ L-Lactat + NAD⁺

S-GOT



S-AP



Die Qualitätskontrolle erfolgte mit Hilfe des Enzymkontrollserums Precinorm^R E von Boehringer Mannheim. Die erzielten Werte lagen gut im zulässigen Streubereich.

Der Serumharnstoff wurde mit Hilfe der Test-Kombination "Harnstoff" der Firma Boehringer Mannheim GmbH als enzymatischer Farbtest nach Vorschrift bestimmt. Gemessen wurde am gleichen Photometer bei 546 nm.

Methode:

Spaltung mit Urease/Berthelot-Reaktion (23)

Testprinzip:



Die aus Harnstoff nach Ureasebehandlung entstandenen Ammoniumionen reagieren mit Phenol und Hypochlorit unter Bildung eines Farbkomplexes.

Es wurden 10 μ l Serum benötigt.

6. Maßeinheiten der bestimmten Parameter

Relatives Lebergewicht:

Lebergewicht in % Körpergewicht

Wassergehalt der Leber in % Leberfrischgewicht

Aktivitäten der Serumenzyme GPT, GOT und AP:

Units pro Liter Serum (U/l)

Serumkonzentration des Harnstoff:

mg Harnstoff pro 100 ml Serum (mg%)

7. Statistische Verfahren

Aus den experimentell gewonnenen Meßgrößen wurden der Mittelwert ($\bar{x}$) und der "Standard Error of Means" (SEM = Standardabweichung : $\sqrt{n}$) berechnet. Die Feststellung signifikanter Unterschiede zwischen den Gruppen erfolgte mit Hilfe der einfachen Varianzanalyse bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit $p \leq 0,05$ entsprechend der Tabelle nach Linder (48).

GRUPPE	1	2	3	4
TIERZAHL n	10	15	15	15
SUBSTANZ	Olivienöl	Ethinylöstradiol		
DOSIS	10 ml/kg	0,5 mg/kg	1,0 mg/kg	5,0 mg/kg
MODUS	subcutan			
GABEN	1.-4.Tag 7 bis 8 Uhr			
MESSUNG	5.Tag 7 bis 8 Uhr			

Tabelle 5 Behandlungsplan des Vorversuches

GRUPPE	1	2	3	4
TIERZAHL n	10 bis 16			
OLIVENÖL 10 ml/kg s.c.	1.-4.Tag 7 bis 8 Uhr			
ETHINYLÖSTRADIOL 0,5 mg/kg s.c.	1.-4.Tag 7 bis 8 Uhr			
1,5 mM MgSO ₄ -LÖSUNG 10 ml/kg i.v.	5.Tag 7 bis 8 Uhr	5.Tag 7 bis 8 Uhr	5.Tag 7 bis 8 Uhr	5.Tag 7 bis 8 Uhr
TETRACYCLIN 50 (100) mg/kg i.v.	—	5.Tag 7 bis 8 Uhr	—	5.Tag 7 bis 8 Uhr

Tabelle 6 Behandlungsplan des Hauptversuches

Ergebnisse

1. Vorversuch

Die Ergebnisse des Vorversuches sind in den Abbildungen 3 bis 7 zusammengefaßt.

Schon die Dosis von täglich 0,5 mg Ethinylöstradiol pro kg Körpergewicht führte nach fünf Tagen zu einem signifikanten Anstieg von relativem Lebergewicht, Transaminasen und alkalischer Phosphatase. Maximale Wirkung auf relatives Lebergewicht, S-GPT und S-GOT entfaltete das Hormonomimeticum bei einer Dosis von 1,0 mg/kg. Bei Behandlung mit 5,0 mg/kg zeigte nur die alkalische Phosphatase im Serum einen weiteren signifikanten Anstieg. Beim Serumharnstoff traten dagegen nach keiner der verwendeten Dosen signifikante Veränderungen auf.

Die Dosis von 0,5 mg/kg Ethinylöstradiol führte also bereits zu Veränderungen einiger klinisch-chemischer Parameter, die auf eine Störung der Leberfunktion hinweisen; doch lag sie deutlich im submaximal toxischen Bereich und war demzufolge geeignet, Interaktionseffekte mit Tetracyclin erkennen zu lassen. Sie fand im Hauptversuch Verwendung.

2. Hauptversuch

a) Ethinylöstradiol

Die im Vorversuch beschriebene Wirkung von Ethinyl-
östradiol auf das relative Lebergewicht hielt über
den gesamten Beobachtungszeitraum hinweg an (Abb.8).
Der Leberwassergehalt war deutlich und zum Teil
signifikant vermehrt (Abb.9).

Die Serum-GPT war in fast allen Versuchsreihen, d.h.
zu fast allen Zeiten signifikant vermehrt (Abb.10).
Die Serum-GOT war regelmäßig vermehrt, doch erreich-
ten die Veränderungen nicht immer das Signifikanz-
niveau (Abb.11).

Dagegen war die alkalische Phosphatase in allen Ver-
suchsgruppen (mit Ausnahme 72 Stunden nach der
letzten Hormongabe) signifikant vermehrt (Abb.12).
Der Serumharnstoffspiegel schwankte um den Normal-
wert. Eine eindeutige Tendenz war trotz verschiedent-
lich nachweisbarer rechnerischer Signifikanzen nicht
zu erkennen (Abb.13).

b) Tetracyclin

Lebergewicht (Abb.8) und Leberwassergehalt (Abb.9):
In beiden Dosierungen verursachte Tetracyclin eine Zunahme des relativen Lebergewichtes, die allerdings nicht vor der 8. Stunde auftrat und nur relativ gering war.

Den Wassergehalt der Leber beeinflusste nur die 100 mg/kg - Dosis, die in der 4. Stunde zu einer signifikanten Wassereinlagerung führte.

Serumtransaminasen (Abb.10 + 11):

Die beiden Transaminasen zeigten auf Tetracyclin weitgehend parallele Reaktionen.

Die Serum-GPT war nach 50 mg/kg Tetracyclin nach 8 Stunden, nach 100 µg/g Tetracyclin bereits nach 2 Stunden signifikant erhöht. Nach 24 Stunden waren die Werte nach beiden Dosen wieder normal.

Ähnlich verhielt sich die Serum-GOT. Nach 50 µg/g Tetracyclin war sie nur nach 8 Stunden signifikant erhöht, nach 24 Stunden dagegen vermindert. Nach 100 µg/g Tetracyclin erfolgte der Anstieg bereits früher. Er war von der 4. bis zur 24. Stunde signifikant.

Schließlich waren nach 48 Stunden die Serum-GOT- und Serum-GPT-Werte wieder im Bereich der Norm.

Alkalische Phosphatase (Abb.12):

Erhöhungen der Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum traten bei beiden Tetracyclindosen schon nach 2 Stunden auf, nach 4 Stunden waren sie nicht signifikant. Unter 50 µg/g Tetracyclin fand sich ein erneuter Anstieg der Aktivität der alkalischen Phosphatase nach 8 Stunden. Die größere Dosis wurde zu diesem Zeitpunkt nicht untersucht. 24 Stunden nach der Tetracyclingabe hatten sich bei beiden Dosen die Verhältnisse wieder normalisiert.

Serumharnstoff (Abb.13):

Signifikante Erhöhungen des Serumharnstoffes traten nach beiden Dosen bereits 2 Stunden nach der Gabe des Antibioticums auf. Das Ausmaß des Anstieges war dosisabhängig, sein Maximum fand sich in der 2. bis 4. Stunde. Normale Harnstoffspiegel stellten sich nach der niedrigeren Dosis nach 48 Stunden ein, nach 100 µg/g Tetracyclin war auch der 48-Stunden-Wert noch erhöht.

c) Ethinylöstradiol + Tetracyclin

Lebergewicht (Abb.8) und Leberwassergehalt (Abb.9): Ethinylöstradiol und Tetracyclin hatten keinen synergistischen Effekt auf das relative Lebergewicht.

Im Gegenteil verringerten 50 µg/g Tetracyclin sogar das durch die Hormongabe vergrößerte relative Lebergewicht zu fast allen Zeitpunkten. Die Differenz war allerdings nur in einem Fall (4 Stunden nach 50 µg/g Tetracyclin) signifikant.

Eine gleichsinnige Beeinflussung des Leberwassergehaltes konnte jedoch nicht nachgewiesen werden.

Transaminasen (Abb. 10 + 11):

Bei den Transaminasen kamen synergistische und antagonistische Effekte zwischen Tetracyclin und Ethinylöstradiol vor.

Der Anstieg der Serum-GPT wurde durch 50 µg/g Tetracyclin 2 Stunden nach der Antibioticumgabe verstärkt, zu den späteren Zeitpunkten zum Teil signifikant vermindert. Ein ähnlicher Antagonismus fand sich auch bei der höheren Tetracyclindosis. Bei der Serum-GOT lagen die Verhältnisse ähnlich. 50 µg/g Tetracyclin verstärkten anfangs (nach 2 Stunden) die Zunahme der Serum-GOT, danach verminderten bzw. verhinderten sie die Zunahme der Enzymaktivität im Serum. In ähnlicher Weise verursachten 100 µg/g Tetracyclin nach 4 Stunden einen synergistischen, nach 24 Stunden einen antagonistischen Effekt auf die Serum-GOT.

Alkalische Phosphatase im Serum (Abb.12):

Bei der alkalischen Phosphatase im Serum waren die Verhältnisse nicht eindeutig. Gegenüber den nur mit Ethinylöstradiol behandelten Tieren waren bei den mit Ethinylöstradiol + Tetracyclin behandelten Mäusen die Aktivitäten des Enzyms im Serum zwar in zwei Fällen signifikant verschieden, doch war ein eindeutiger Trend zu Synergismus oder Antagonismus nicht zu erkennen.

Serumharnstoff (Abb.13):

Bei den mit 50 µg/g Tetracyclin behandelten Tieren hatte die Ethinylöstradiol-Vorbehandlung keinen Einfluß auf die Veränderungen im Serumharnstoffspiegel. Die Serumharnstoffwerte stiegen etwa gleich stark an wie bei den nur mit 50 µg/g Tetracyclin behandelten Mäusen. Auf die weitaus stärkere Zunahme des Serumharnstoffes nach 100 µg/g Tetracyclin hatte die Vorbehandlung mit Ethinylöstradiol dagegen einen deutlich antagonistischen Einfluß, besonders nach 4 und 24 Stunden. Der Anstieg des Serumharnstoffes war nach 4 Stunden sehr viel geringer und fehlte nach 24 Stunden vollständig.

Diskussion

In Vor- und Hauptversuch zeigten sich ethinyl-
östradiolvermittelte Beeinflussungen der unter-
suchten Parameter.

Das parallele Verhalten von Transaminasen und
relativem Lebergewicht, der Nachweis einer östro-
genbedingten Wassereinlagerung in die Leber durch
den Vergleich von relativem Lebergewicht und
Lebertrockengewicht im Hauptversuch und das
Wissen um den antinatriuretischen und anti-
diuretischen Effekt der Östrogene (74) legen
nahe, eine durch hydropische Zellschwellung ver-
ursachte Steigerung der Cytoplasmamembranper-
meabilität anzunehmen, die es der S-GPT bzw.
S-GOT gestattet, vermehrt ins Blutplasma über-
zutreten.

Das Verhalten der cholestaseanzeigenden alka-
lischen Phosphatase im Serum weist in Überein-
stimmung mit anderen Untersuchern (24,35) auf
eine durch steigende Östrogenbelastung zu-
nehmend beeinträchtigte exkretorische hepato-
biliäre Funktion hin:

Bei Ratten konnte gezeigt werden, daß Ethinyl-
östradiol, in ähnlicher Dosierung wie in unseren
Versuchen verabreicht, den Gallefluß reduziert (24),

die maximale Transportkapazität für Gallensäuren und die Bromsulfaeinexkretion senkt (35).

Eine geringgradig vermehrte Bromsulfaeinretention wurde ebenfalls im letzten Trimester der Schwangerschaft festgestellt. Auch sie ist durch ein reduziertes Transportmaximum (Exkretionsstörung) bei gesteigerter Speicherkapazität der Leber charakterisiert (64) und darf wohl als östrogenbedingt angesehen werden.

In den Hauptversuchen hielten die östrogeninduzierten hepatotoxischen Effekte auch 48 bis 72 Stunden nach der letzten Hormongabe an. Dieses steht wohl im Zusammenhang mit der relativ langen Halbwertszeit des Ethinylöstradiol und seiner sehr festen Bindung an die Rezeptoren der Zielorgane (55).

Während sich in den eigenen Untersuchungen eine Vermehrung des Wassergehaltes der Leber nach Ethinylöstradiolbehandlung nachweisen ließ, ergaben sich hinsichtlich des DNA-, RNA- und Eiweißgehaltes der Leber (4) keine signifikanten Änderungen.

Dennoch fanden sich im Hauptversuch Hinweise auf anabole bzw. antikatabole Östrogeneigenschaften:

In einer Versuchsreihe war Ethinylöstradiol in der Lage,

1. die Serumharnstoffkonzentration signifikant zu senken, und
2. die tetracyclininduzierten Serumharnstoff erhöhungen (nach 100 mg/kg Tetracyclin i.v.) antagonistisch zu beeinflussen.

Die Wirkungen der Tetracycline auf den Leberstoffwechsel werden in erster Linie mit einer Störung der Proteinsynthese, d.h. dem katabolen Effekt der Tetracycline, in Zusammenhang gebracht. Einen Hinweis auf das Vorliegen einer solchen katabolen Wirkung gibt der Anstieg des Serumharnstoffes, den wir in Übereinstimmung mit früheren Untersuchungen (6,15,53,70,79) gefunden haben. Wie unveröffentlichte Versuche von Böcker ergeben haben, führt die kurzfristige Verabreichung von Tetracyclinen in der von uns verwendeten Dosis jedoch nicht zu einer signifikanten Veränderung des Proteingehaltes der Leber. In diesem Zusammenhang darf aber nicht übersehen werden, daß der Anstieg des Serumharnstoffes auch Indikator einer Nierenfunktionsstörung sein kann, wie sie durch Tetracycline gelegentlich ebenfalls verursacht wird (9,15,29,45,60,73).

Auch die in den vorliegenden Versuchen beobachtete Zunahme der Transaminasen im Serum steht in Über-

einstimmung mit klinischen und tierexperimentellen Erfahrungen (6,9,15,18,21,39,70,72,76,79). Da die Transaminasen zu den intrazellulär lokalisierten Enzymen gehören, wobei die GPT vorwiegend in den Leberzellen, die GOT vor allem in der Leber, aber auch in Herz- und Skelettmuskulatur, Niere, Gehirn und Erythrozyten vorkommt (36), ist das Auftreten von diesen Enzymen ein Indikator für eine Zellschädigung. Die schnelle Reversibilität der Transaminasenanstiege im Serum spricht dafür, daß es sich wohl mehr um eine vorübergehende Änderung der Membranpermeabilität als um eine irreversible Zellschädigung im Sinne von Nekrosen handelt, die für den Anstieg der Transaminasen im Serum verantwortlich ist. In die gleiche Richtung deutet die klinische Erfahrung, daß Leberzellnekrosen nicht zum typischen Bild der tetracyclininduzierten Leberschädigung gehören (typisch ist die Steatose) (3,15,21,62,66,79). Interessant ist, daß Böcker et al (7) in der Tat unter einer Behandlung von Mäusen mit einem anderen Tetracyclin-derivat, nämlich mit Roli-Tetracyclin, eine Zunahme von leberspezifischen Enzymen im Serum gefunden haben, ohne daß gleichzeitig Nekrosen bei der histologischen Untersuchung der Leber nachweisbar geworden wären.

Die Vermehrung der alkalischen Phosphatase im Serum unter Tetracyclin war nur flüchtig. Es stellt sich deshalb die Frage, ob sie Ausdruck einer cholestatischen Stoffwechselstörung der Leber ist, oder auch Ausdruck einer unspezifischen Zellschädigung, wie der Anstieg der Serumtransaminasen.

Behandlung mit Ethinylöstradiol + Tetracyclin:
Sparano (75) schrieb Östrogenen eine Schutzwirkung vor tetracyclinbedingten Leberschäden zu. Götz (30) berichtete über protektive Einflüsse des Roll-tetracyclin auf die ethinylöstradiolgeschädigte Leber. Andererseits traten tödliche Komplikationen der Tetracyclintherapie gerade bei Schwangeren auf, und eingehende systematische Untersuchungen von Böcker und Mitarbeitern (5,6) haben aufgezeigt, daß ähnlich wie beim Menschen (42) auch bei Mäusen weibliche Individuen stärker betroffen werden als männliche. Die Vielfalt der geschilderten Beobachtungen deutet auf ein komplexes Interaktionsgeschehen zwischen Östrogenen und Tetracyclinen hin.

Synergistische bzw. antagonistische Effekte bei kombinierter Behandlung der Mäuse mit Ethinyl-

Östradiol und Tetracyclin stellten sich in unseren Versuchen abhängig von der Einwirkdauer des Tetracyclin ein. Bei den mit Ethinyl-Östradiol vorbehandelten Tieren zeigten sich zwei Stunden nach Gabe von 50 mg/kg und vier Stunden nach Behandlung mit 100 mg/kg Tetracyclin i.v. deutliche und zum Teil signifikante Toxizitätssteigerungen, erkennbar am Verhalten der Transaminasen im Serum. Zu gleichsinnigen Beeinflussungen des relativen Lebergewichtes und der Menge an alkalischer Phosphatase im Serum kam es nicht.

Abschwächungen der Östrogenwirkung, die zum Teil auch statistisch signifikant waren, zeichneten sich dagegen in den späteren Phasen der Tetracyclinwirkung ab, erkennbar am geringeren Anstieg des relativen Lebergewichtes und zum Teil auch der alkalischen Phosphatase im Serum, obwohl bei letzterem Parameter die Verhältnisse nicht eindeutig waren. Als Antagonismus ist auch der Umstand zu werten, daß bei den mit Ethinyl-Östradiol vorbehandelten Mäusen Tetracyclin in der höheren Dosis von 100 mg/kg einen deutlich geringeren Anstieg des Serumharnstoffspiegels verursachte.

Die Frage, welche Mechanismen dem zeitlich unterschiedlichen Interaktionsverhalten zwischen Tetracyclinen und Ethinylöstradiol zu Grunde liegen, kann anhand der eigenen Versuche nicht entschieden werden. Ihre Beantwortung bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten.

Zusammenfassung

Die Interaktion von Ethinylöstradiol und Tetracyclin hinsichtlich ihrer Hepatotoxizität wurde an geschlechtsreifen weiblichen NMRI-Mäusen untersucht. In Vorversuchen konnte anhand einer Dosis-Wirkungsbeziehung eine submaximal hepatotoxische Dosis von 50 mg/kg Ethinylöstradiol ermittelt werden. Sie wurde an vier aufeinanderfolgenden Tagen subcutan verabreicht und in diesem Dosierungsschema auch im Hauptversuch verwendet.

Im Hauptversuch erhielten die Tiere nach viertägiger Hormonvorbehandlung am 5. Tag 50 bzw. 100 mg/kg Tetracyclin i.v. Als Kontrollgruppen dienten Tiere, die nur Ethinylöstradiol (4 x 0,5 mg/kg s.c.) oder nur Tetracyclin (50 bzw. 100 mg/kg i.v.) oder nur die Vehikellösungen (Olivöl bzw. 1,5 mM MgSO_4 -Lösung) erhalten hatten. Als Toxizitätsparameter dienten das relative Lebergewicht, der Wassergehalt der Leber, der Serumharnstoffspiegel und die Aktivitäten der Transaminasen (GPT und GOT) und der alkalischen Phosphatase im Serum. Diese Parameter wurden 2, 4, 8, 24 und 48 Stunden nach der Antibioticumgabe bestimmt.

Es zeichneten sich folgende Ergebnisse ab:

Ethinylöstradiol führte zu einer Zunahme des relativen Lebergewichtes, des Wassergehaltes der Leber, der Transaminasen und der alkalischen Phosphatase im Serum. Diese Veränderungen waren zum Teil noch 72 Stunden nach der letzten Östrogen-gabe nachweisbar. Eindeutige Veränderungen im Serumharnstoffspiegel traten nicht auf.

Diese Befunde sprechen für eine gestörte exkretorische hepatobiliäre Funktion und eine gesteigerte Cytoplasmamembranpermeabilität, wohl aufgrund einer hydropischen Zellschwellung.

Tetracyclin erhöhte das relative Lebergewicht, wenn überhaupt, nur geringfügig, vermutlich über eine vermehrte Einlagerung von Wasser und Fett. Es führte zu einer vorübergehenden Zunahme der Transaminasen im Serum und des Serumharnstoffes. Diese Veränderungen dürften Ausdruck einer reversiblen Membranschädigung der Hepatozyten mit Austritt von zellständigen Enzymen und des bekannten katabolen Effektes der Tetracycline sein.

Bei den mit Ethinylöstradiol vorbehandelten Mäusen führte Tetracyclin initial zu einem noch stärkeren Anstieg der Transaminasenaktivität im Serum. Später

waren die Transaminasenwerte im Serum eher geringer als unter Tetracyclin allein. Die Zunahme des relativen Lebergewichtes war bei den mit Ethinylöstradiol + Tetracyclin behandelten Mäusen geringer als unter Ethinylöstradiol allein, der Anstieg des Serumharnstoffes geringer als unter Tetracyclin allein.

Tetracyclin und Ethinylöstradiol verhalten sich also in Bezug auf ihre hepatotoxischen Effekte eher als Antagonisten denn als Synergisten. Insofern finden frühere Beobachtungen von Sparano (75), daß Östrogene einen Schutzeffekt gegenüber Tetracyclinen besitzen, in den vorliegenden Versuchen eine Bestätigung. Die von Böcker und Mitarbeitern (6) geäußerte Vermutung, daß Östrogene für die verstärkte Hepatotoxizität der Tetracycline verantwortlich sein könnten, wird dagegen durch die vorliegenden Untersuchungen nicht gestützt.

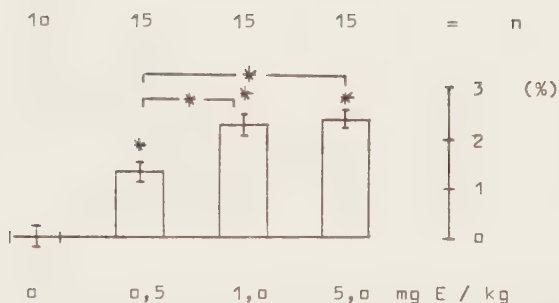


Abb.3:Änderungen des relativen Lebergewichtes ($\Delta\bar{x} \pm \text{SEM}$) nach Behandlung mit Ethinylöstradiol (E).
Behandlungsplan s.Tab.5

Mittelwert der Kontrollgruppe = 5,83 %

* :signifikant ($p \leq 0,05$) gegen Kontrolle (0 mg/kg)

*** :signifikant ($p \leq 0,05$) im paarweisen Vergleich der entsprechenden Gruppen.

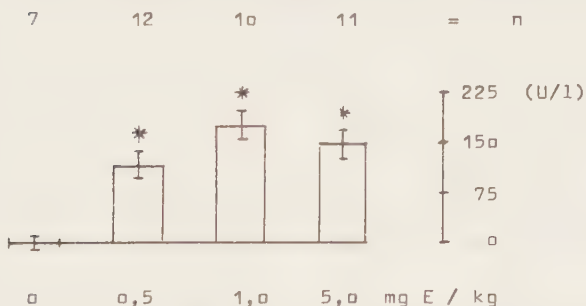


Abb.4:Änderungen der Aktivität der GPT im Serum ($\Delta\bar{x} \pm \text{SEM}$) nach Behandlung mit Ethinylöstradiol (E).
Behandlungsplan s.Tab.5

Mittelwert der Kontrollgruppe = 30 U/l

* :signifikant ($p \leq 0,05$) gegen Kontrolle (0 mg/kg)

*** :signifikant ($p \leq 0,05$) im paarweisen Vergleich der entsprechenden Gruppen.

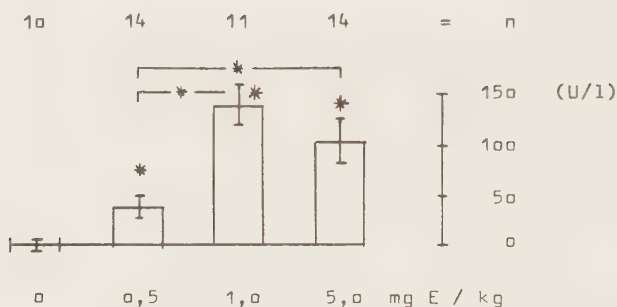


Abb.5:Änderungen der Aktivität der GOT im Serum ($\Delta\bar{x} \pm \text{SEM}$) nach Behandlung mit Ethinylöstradiol (E). Behandlungsplan s.Tab.5

Mittelwert der Kontrollgruppe = 104 U/l

* :signifikant ($p \leq 0,05$) gegen Kontrolle (0 mg/kg)

*** :signifikant ($p \leq 0,05$) im paarweisen Vergleich der entsprechenden Gruppen.

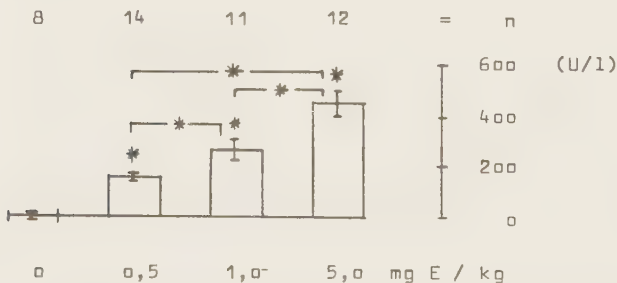
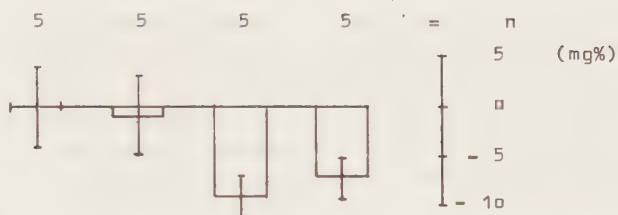


Abb.6:Änderungen der Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum ($\Delta\bar{x} \pm \text{SEM}$) nach Behandlung mit Ethinylöstradiol (E).Behandlungsplan s.Tab.5

Mittelwert der Kontrollgruppe = 224 U/l

* :signifikant ($p \leq 0,05$) gegen Kontrolle (0 mg/kg)

*** :signifikant ($p \leq 0,05$) im paarweisen Vergleich der entsprechenden Gruppen.



0 0,5 1,0 5,0 mg E / kg

Abb.7: Änderungen der Konzentration des Harnstoffes im Serum ($\bar{x} \pm \text{SEM}$) nach Behandlung mit Ethinyl-östradiol (E).

Behandlungsplan s.Tab.5.

Mittelwert der Kontrollgruppe = 36 mg%

* :signifikant ($p \leq 0,05$) gegen Kontrolle (0 mg/kg)

-*- :signifikant ($p \leq 0,05$) im paarweisen Vergleich der entsprechenden Gruppen.

Abb.8:Änderungen des relativen Lebergewichtes ($\Delta\bar{x} \pm \text{SEM}$) nach Behandlung mit Ethinylöstradiol (E) und Tetracyclin (T 50/100). Behandlungsplan s.Tab.6
Mittlerer Kontrollwert = 5,75 %
* :signifikant ($p \leq 0,05$) gegen Kontrollgruppe (K)
*- :signifikant ($p \leq 0,05$) im paarweisen Vergleich der entsprechenden Gruppen.

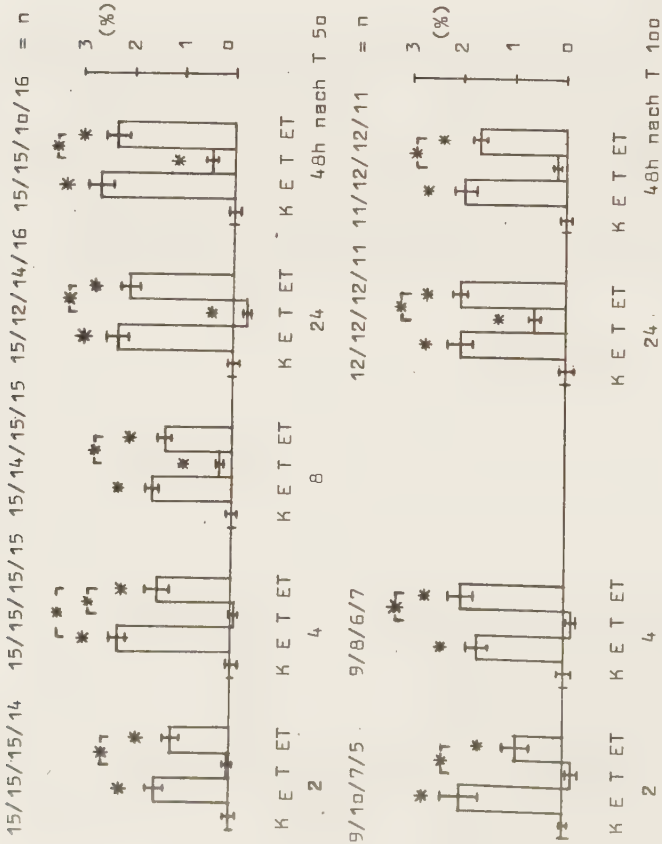


Abb. 10: Änderungen der Aktivität der GPT/im Serum ($\bar{x} \pm \text{SEM}$) nach Behandlung mit Ethinylöstradiol (E) und Tetracyclin (T 50/100). Behandlungsplan s. Tab. 6
Mittlerer Kontrollwert = 41 U/l

* :signifikant ($p \leq 0,05$) gegen Kontrollgruppe (K)

*- :signifikant ($p \leq 0,05$) im paarweisen Vergleich der entsprechenden Gruppen.

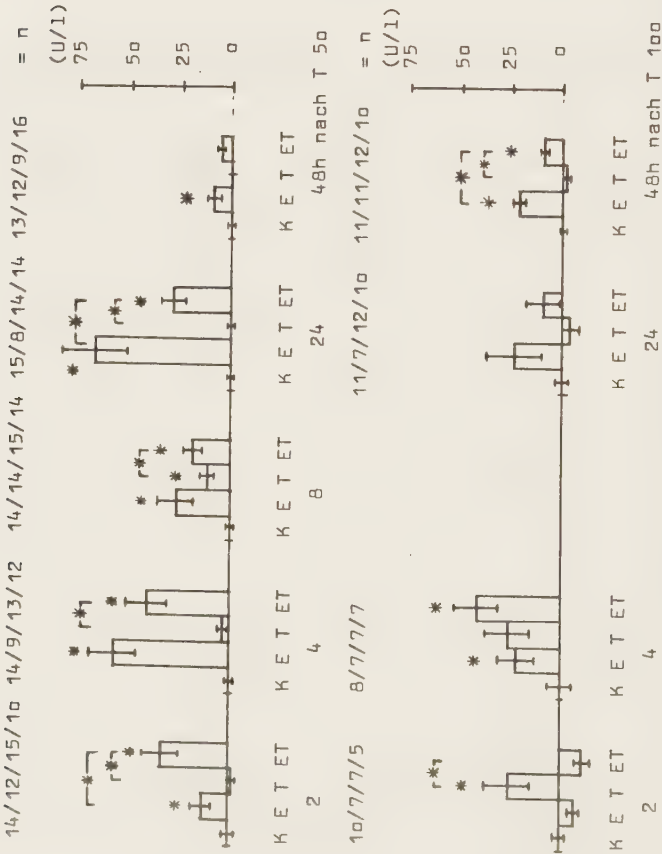


Abb. 11: Änderungen der Aktivität der GOT im Serum ($\Delta \bar{x} \pm \text{SEM}$) nach Behandlung mit Ethinylöstradiol (E) und Tetracyclin (T 50/100). Behandlungsplan s. Tab. 6
Mittlerer Kontrollwert = 112 U/l

* :signifikant ($p \leq 0,05$) gegen Kontrollgruppe (K)
*- :signifikant ($p \leq 0,05$) im paarweisen Vergleich der entsprechenden Gruppen.

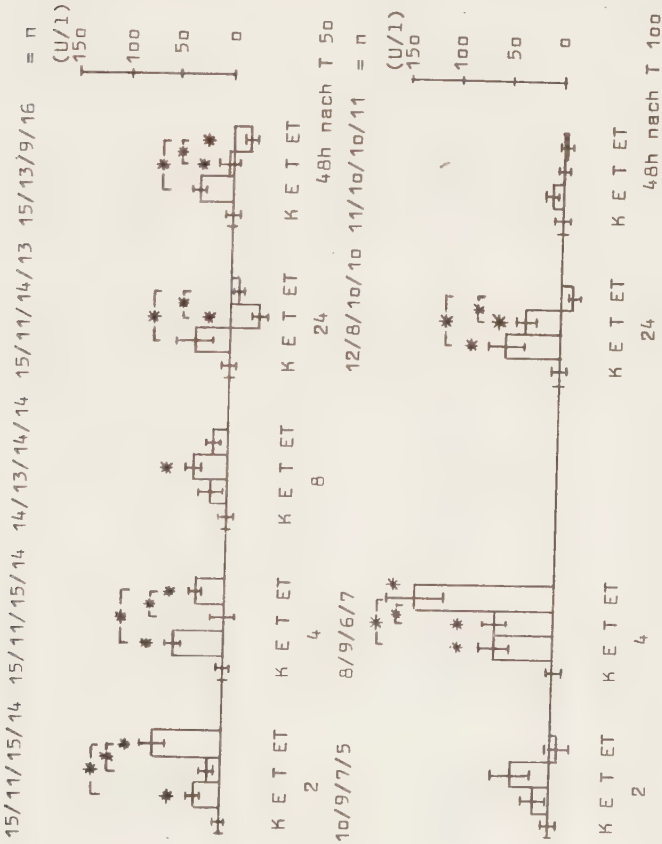


Abb.12:Änderungen der Aktivität der alkalischen Phosphatase im Serum ($\Delta\bar{x} \pm \text{SEM}$) nach Behandlung mit Ethinylöstradiol (E) und Tetracyclin (T 50/100).

Behandlungsplan s.Tab.6

Mittlerer Kontrollwert = 221 U/l

* :signifikant ($p \leq 0,05$) gegen Kontrollgruppe (K)

**- :signifikant ($p \leq 0,05$) im paarweisen Vergleich der entsprechenden Gruppen.

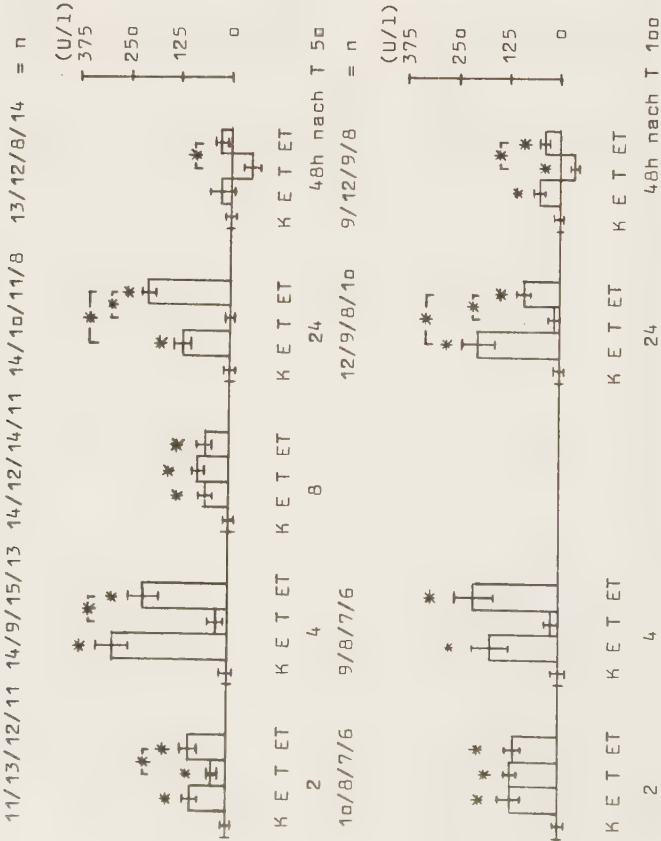


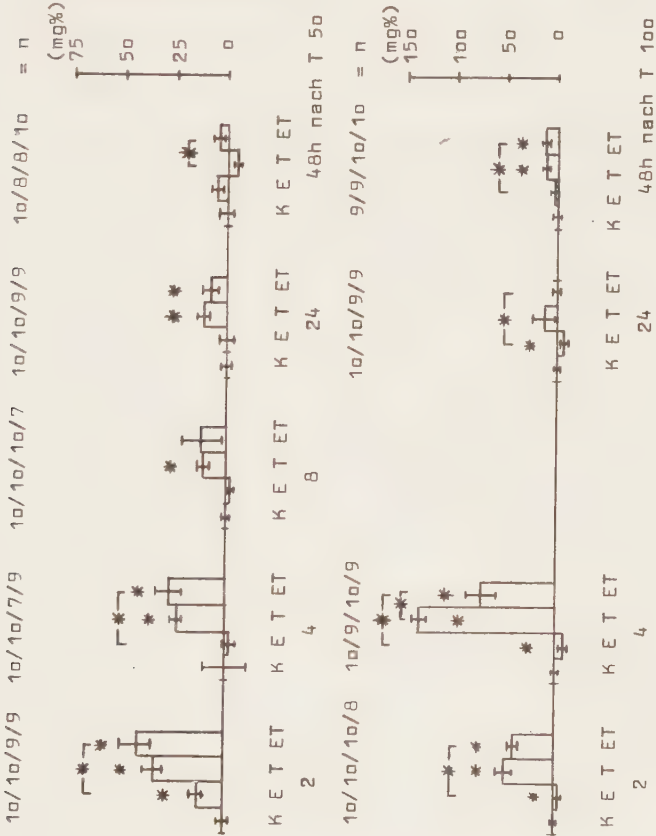
Abb.13:Änderungen der Konzentration des Harnstoffes im Serum ($\Delta\bar{x} \pm \text{SEM}$) nach Behandlung mit Ethinyl-
östradiol (E) und Tetracyclin (T 50/100).

Behandlungsplan s.Tab.6

Mittlerer Kontrollwert = 38 mg%

* :signifikant ($p \leq 0,05$) gegen Kontrollgruppe (K)

-*- :signifikant ($p \leq 0,05$) im paarweisen Vergleich der entsprechenden Gruppen.



Literaturverzeichnis

1. D.Acosta,D.Anuforo,R.V.Smith

The use of primary liver cell cultures to
study hepatotoxic agents

Department of Pharmacol. and Drug Dynamics Inst.
University of Texas , Austin

9 , 268 , 1978

2. H.Adlercreutz,R.Tenhunen

Some aspects of the interaction between natural
and synthetic female sex hormones and the liver
Amer.J.Med.

49 , 630 - 648 , 1970

3. E.S.Allen,W.E.Brown

Hepatic toxicity of tetracycline in pregnancy
Amer.J.Obst.&Gynec.

95 , 12 - 18 , 1966

4. R.Böcker

unveröffentlichte Studie

1980

5. R.Böcker, C.-J.Estler, M.Maywald, D.Weber
Comparative evaluation of the effects of
tetracycline and doxycycline on blood and
liver lipids of male and female mice
Arzneim.-Forsch./Drug Res.
31(II) , 12 , 2118 - 2120 , 1981
6. R.Böcker, C.-J.Estler, S.Müller, C.Pfandzelter,
B.Spachmüller
Comparative evaluation of the effects of
tetracycline, rolitetracycline and doxycycline
on some blood parameters related to liver
function
Arzneim.-Forsch./Drug Res.
32(I) , 3 , 237 - 241 , 1982
7. R.Böcker, H.Götz, H.-J.Pesch, C.-J.Estler
Liver damage after rolitetracycline alone
and in combination with sex hormones
Arch.Pharmacol.
316 , R 22 , 1981
8. R.Böcker, G.Hopf
Persönliche Mitteilung

9. Boston Collaborative Drug Surveillance Program
Tetracycline and drug-attributed rises in
blood urea nitrogen
J.Amer.Med.Ass.
220 , 377 - 379 , 1972

10. K.Breen,S.Schenker,M.Heimberg
The effect of tetracycline on the hepatic
secretion of triglycerides
Biochim.Biophys.Acta
270 , 74 - 80 , 1972

11. K.J.Breen,S.Schenker,M.Heimberg
Fatty liver induced by tetracycline in the rat
Gastroenterology
69 , 714 - 723 , 1975

12. K.J.Breen,S.Schenker, M.Heimberg
Effect of tetracycline on the metabolism of
(1-14C)oleate by the liver
Biochem.Pharmacol.
28 , 197 - 200 , 1979

13. E.Brunner und Kollegium
Biomathematik für Mediziner
S.28 - 37
Springer Verlag, Berlin
1975
14. G.R.Craven, R.Gavin, T.Flamming
The transfer RNA-bindingsite of the
30-S-ribosom and the site of tetracycline
inhibition
Sympos.Quant.Biol.
34 , 129 - 137 , 1969
15. J.S.Davis, R.H.Kaufman
Tetracycline toxicity. A clinicopathological
study with special reference to liver damage
and its relationship to pregnancy
Amer.J.Obst.
95 , 523 - 529 , 1966
16. H.De Vries, A.M.Kroon
On the effect of chloramphenicol and oxy-
tetracycline on the biogenesis of mammalian
mitochondria
Biochemica and Biophysica Acta
204 , 531 - 541 , 1970

17. H.F.Dowling,M.H.Lepper
Hepatic reactions to tetracycline
J.Amer.Med.Ass.
188 , 235 - 237 , 1964
18. O.M.Edwards,E.C.Huskisson,R.T.Taylor
Azotaemia aggravated by tetracyclines
Brit. Med.J.
1 , 26 - 27 , 1970
19. Empfehlung der Deutschen Gesellschaft für
Klinische Chemie
Z.klin.Chem.u.klin.Biochem.
8 , 658 , 1970
10 , 182 , 1972
20. C.-J.Estler,R.Böcker
Role of sex and age in the tetracycline-induced
hepatic steatosis.Comparative study on the
effect of rolitetracycline on some parameters
of hepatic lipid metabolism in male and female
mice
Toxicol.Appl.Pharmacol.
54 , 508 - 513 , 1980

21. U.W.Faalon, J.J.Downs, K.Duggan, J.T.Prior
Nitrogen and electrolyte metabolism and
hepatic function and histology in patients
receiving tetracycline
Amer.J.Med.Sci.
233 , 563 - 572 , 1957

22. J.Fabre, E.Milek, P.Kalfopoulos, G.Mérier
Die Kinetik der Tetracycline beim Menschen
unter besonderer Berücksichtigung von
Doxycyclin
Schweiz.med.Wochenschrift
101 , 593 - 598 , 625 - 633 , 1971

23. J.K.Fawcett, J.E.Scott
A rapid and precise method for the determi-
nation of urea
J.Clin.Path.
13 , 156 - 159 , 1960

24. E.L.Forker
The effect of estrogen on bile formation
in the rat
J.Clin.Invest.
48 , 654 - 663 , 1969

25. W.Forth,D.Henschler,W.Rummel

Allgemeine und spezielle Pharmakologie und
Toxikologie

2.Auflage,S.500 ff.

B.I.-Wissenschaftsverlag,Mannheim,Wien,

Zürich

1977

26. T.J.Franklin

The inhibition of incorporation of leucine
into protein of cell-free systems from rat
liver and Escherichia coli by chlortetra-
cycline

Biochem.J.

87 , 449 - 453 , 1963

27. T.J.Franklin,G.A.Snow

Biochemie antimikrobieller Wirkstoffe

1.Auflage,S.111

Springer Verlag,Heidelberg

1973

28. T.F.Gallagher jr.,M.N.Mueller,A.Kappas
Estrogen pharmacology.
IV Studies on the structural basis for
estrogen-induced impairment of liver function
Medicine (Balt)
45 , 471 - 479 , 1968
29. C.R.P.George,R.A.Evans
Tetracycline toxicity in renal failure
Med.J.Aust.
1 , 1271 - 1273 , 1971
30. H.Götz
Hepatotoxizität von Pyrrolidinomethyl-Tetra-
cyclin bei gleichzeitiger Gabe von Ethinyl-
östradiol bzw. Testosteronpropionat
Inaug.Diss.Med.Fak.Erlangen
1981
31. G.S.Gough,R.L.Search
Additional case of fatal liver disease with
tetracycline therapy.Letter to the editor.
New Engl.J.Med.
270 , 157 - 158 , 1964

32. E.Habermann,H.Löffler

Spezielle Pharmakologie und Arzneitherapie

3.Auflage,S.104

Springer Verlag,Berlin,Heidelberg,New York

1979

33. M.E.Hamner

Compatibility of zinc cations with demethyl-
chlortetracycline hydrochloride

Antibiot.and Chemother. (NY)

11 , 498 - 500 , 1961

34. C.H.Hansen,L.H.Pearson,S.Schenker,B.Combes

Impaired secretion of triglycerides by the
liver;a cause of tetracycline-induced fatty
liver

Proc.Soc.exp.Biol.Med.

128 , 143 - 146 , 1968

35. M.Harkavy,N.B.Javitt

Effect of ethinyl estradiol on hepatic excre-
tory function of the rat

In: Metabolic effects of gonadal hormones
and contraceptive steroids

Edt.H.A.Salhanick,D.M.Kipnis,R.L.Van de Wiele

pp.11 - 18

Plenum Press, New York

1969

36. R.Hegglin, W.Siegenthaler

Differentialdiagnose innerer Krankheiten

14. Auflage, S. 38.23

Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York

1980

37. T.A.J.Heikel, G.H.Lathe

The effect of oral contraceptive steroids
on bile secretion and bilirubin Tm in rats
Brit.J.Pharmacol.

38 , 593 - 601 , 1970

38. H.Heller

Leberfunktion und Glucosetoleranz unter der
Behandlung mit dem oralen Kontrazeptivum
Ovosiston

Dtsch.Ges.wesen

27 , 1035 - 1038 , 1972

39. J.Korkeila

Antianabolic effect of tetracyclines

Lancet

1 , 974 - 975 , 1971

40. W.Korte,G.Brunner

Degeneration und Nekrose in Leber und Niere
der Ratte nach Zufuhr hoher Dosen von
Östradiol-17 β und Östriol
Endokrinologie
45 , 253 - 268 , 1963

41. M.J.Kreek,R.E.Peterson,M.H.Sleisenger,
G.H.Jeffries

Effects of ethinylestradiol-induced cholestasis
on bile flow and biliary excretion of estradiol
and estradiol glucuronide by the rat
Proc.Soc.exp.Biol.
131 , 646 - 650 , 1969

42. C.T.Kunelis,J.L.Peters,H.A.Edmondson

Fatty liver of pregnancy and its relation-
ship to tetracycline therapy
Amer.J.Med.
38 , 359 - 377 , 1965

43. C.M.Kunin,M.Finland

Excretion of demethylchlortetracycline into
the bile
New England J.Med.
261 , 1069 - 1071 , 1959

44. M.H.Lepper, H.J.Zimmermann, G.Carrol, E.R.Caldwell,
H.W.Spies, C.K.Wolfe, H.F.Dowling
Effect of large doses of aureomycin, terramycin
and chloramphenicol on livers of mice and dogs
Arch.Int.Med.
88 , 284 - 295 , 1951
45. H.T.Lew, S.W.French
Tetracycline nephrotoxicity and non-oliguric
acute renal failure
Arch.Intern.Med.
118 , 123 - 128 , 1966
46. M.Lewis, S.Schenker, B.Combes
Studies on the pathogenesis of tetracycline-
induced fatty liver
Amer.J.Dig.Diss.
12 , 429 - 438 , 1967
47. T.S.Lie
Lebererkrankungen durch hormonelle Kontra-
zeptiva
Münch.med.Wschr.
124 , 489 - 494 , 1982

48. A.Linder

Statistische Methoden für Naturwissenschaftler,
Mediziner und Ingenieure
Verlag Birkhäuser, Basel
1951

49. P.J.Little, R.R.Bailey

Tetracycline and renal failure
New Zeal.Med.J.
71 , 183 - 184 , 1970

50. R.D.Mann, H.F.J.Lahon

The antianabolic effect of certain tetracyclines
Hel.Soc.Chemother.
2 , 541 - 545 , 1974

51. N.Markoff

Orale Kontrazeptiva und Leber
Hippokrates
46 , 270 - 271 , 1975

52. S.E.P.Miller,R.N.M.MacSween,A.C.A.Glen,
K.Tribedi,F.M.L.Moore
Experimental studies on the hepatic effects
of tetracyclines
Brit.J.exp.Path.
44 , 51 - 57 , 1967
53. T.Morgan,N.Ribush
The effect of oxytetracycline and doxycycline
on proteinmetabolism
Med.J.Austr.
1 , 55 - 58 , 1972
54. M.N.Mueller,A.Kappas
Estrogen pharmacology
I The influence of estradiol and estriol on
hepatic disposal of sulfobromophthalein (BSP)
in man
J.Clin.Invest.
43 , 1905 - 1914 , 1964
55. F.Murad,A.G.Gilman
Estrogens and progestins
In: L.S.Goodman,A.Gilman (Edt.)
The pharmacological basis of treatment
p.1430

MacMillan Publishing Co., Inc., 1975

56. H.J.Nelis, A.P. de Leenheer

Unique metabolic fate of a tetracycline

(minocycline)

Letter to the editor

Lancet

2(8252) , 938 , 1981

57. H.Otten, M.Plempel, W.Siegenthaler

Antibiotikafibel

4.Auflage, S.319 - 361

Georg Thieme Verlag, Stuttgart

1975

58. R.H.Palmer, T.F.Gallagher jr., M.N.Mueller,

A.Kappas

The effect of natural and synthetic estrogens
on the excretion of BSP by the liver

In: Metabolic effects of gonadal hormones
and contraceptive steroids

Edt.H.A.Salhanick, D.M.Kipnis, R.L.Van de Wiele
pp.19 - 29

Plenum Press, New York

1969

59. V.Perez,F.S.Schaffner,H.Popper
Hepatic drug reactions
Progr.Liver Dis.
4 , 597 - 625 , 1972
60. R.B.Polec,S.D.J.Jeh,M.E.Shils
Protective effect of ascorbic acid and mannitol
against tetracycline-induced nephrotoxicity
J.Pharmacol.exp.Ther.
178 , 152 - 158 , 1971
61. A.M.Reynard,L.F.Nellis
Uptake of tetracycline by Escherichia coli:
Lack of binding of tetracycline to the uptake
system
Biochem.Biophys.Res.Commun.
48 , 1129 - 1132 , 1972
62. V.M.Sborov,D.A.Sutherland
Fatty liver following aureomycin and terramycin
therapy in chronic hepatic disease
Gastroenterology
18 , 598 - 605 , 1951

63. W.Scheuble,R.Kluthe

Vergleichende Stickstoffbilanz-Untersuchungen
zur antianabolen Wirkung von Tetracyclinen
Nieren- und Hochdruckk.

4 , 95 - 99 , 1975

64. M.Schmid

Leber

In: Klinische Pathophysiologie

Hrsg.W.Siegenthaler

3.Auflage,S.821

Georg Thieme Verlag,Stuttgart

1976

65. E.Schmidt,F.W.Schmidt

Enzymologie

In: Klinische Pathophysiologie

Hrsg.W.Siegenthaler

3.Auflage,S.179

Georg Thieme Verlag,Stuttgart

1976

66. J.C.Schultz,J.S.Adamson jr.,W.W.Workman,
T.D.Norman
Fatal liver disease after intravenous administra-
tion of tetracycline in high dosage
New Engl.J.Med.
269 , 999 - 1004 , 1963
67. H.Selye
On the toxicity of oestrogens with special
reference to diethylstilboestról
Canad.Med.Ass.J.
41 , 48 - 49 , 1939
68. H.Seneca
Biological basis of chemotherapy of infections
and infestations
pp.748 - 769
Davis Company,Philadelphia
1971
69. J.T.Seto,M.H.Lepper
Effect of chlortetracycline,oxytetracycline,
and tetracycline administered intravenously
on hepatic fat content:Quantitative method
of study inducing failure of some vitamins
and other drugs to mitigate the effect

Antibiot.Chemother.

4 , 666 - 672 , 1954

70. B.A.Shauer,L.Lukacs,H.J.Zimmermann

Biochemical indices of tetracycline hepatic
injury in rats

Proc.Soc.exp.Biol.Med.

147 , 868 - 872 , 1974

71. H.L.Sheehan

Jaundice in pregnancy

Amer.J.Obst.&Gynec.

95 , 523 - 529 , 1965

72. M.E.Shils

Some metabolic aspects of tetracyclines

Clin.Pharm.Ther.

3 , 321 - 339 , 1962

73. M.E.Shils

Renal disease and the metabolic effects of
tetracycline

Ann.Intern Med.

58 , 389 - 408 , 1963

74. W.Siegenthaler,D.Würsten,G.Siegenthaler
Wasser- und Elektrolythaushalt
In: Klinische Pathophysiologie
Hrsg.W.Siegenthaler
3.Auflage,S.212
Georg Thieme Verlag,Stuttgart
1976
75. B.M.Ph.D.Sparano
Sex difference in chlortetracycline-induced
fatty liver in rats
Laboratory Investigation
14/11 , 1931 - 1938 , 1965
76. W.Vith,H.J.Roggenbach
Klinisch chemische Untersuchungen unter dem
Einfluß einer Tetracyclininfusionsbehandlung
auf Leber- und Nierenfunktion
Med.Welt
21 , 76 - 80 , 1970
77. E.D.Weinberg
The mutual effects of antimicrobial compounds
and metallic cations
Bacteriological Reviews
21 , 46 - 53 , 1957

78. P.J.Whalley,R.H.Adams,B.Combes

Fatty metamorphosis of the liver and jaundice
precipitates by acute pyelonephritis in
pregnancy

Gastroenterology

46 , 308 , 1964

79. P.J.Whalley,R.H.Adams,B.Combes

Tetracycline toxicity in pregnancy

J.Amer.Med.Ass.

189 , 357 - 362 , 1964

80. E.Wiesmann

Med.Mikrobiol.

4.Auflage

Georg Thieme Verlag,Stuttgart

1978

81. S.D.J.Yeh,M.E.Shils

Tetracyclines and incorporation of aminoacids
into proteins of rat tissues

Proc.Soc.exp.Biol.Med.

121 , 729 - 734 , 1966

Für die Überlassung dieses interessanten Themas
und die gewährte Unterstützung bei der Durch-
führung dieser Arbeit bedanke ich mich bei
Herrn Prof.Dr.med.C.-J.Estler

Lebenslauf

Werner Schramm

geboren am 24. November 1955

in Leupoldsgrün (Krs. Hof/Bayern)

als Sohn des Bauingenieurs Hans Schramm

und der Hausfrau Elfriede Schramm, geb.

Schaller

1962 Besuch der Volksschule Leupoldsgrün

1966 Übertritt in das Schillergymnasium Hof,

1975 dort Allgemeine Hochschulreife

WS 1975/76 Beginn eines Studiums für Mathematik und
Physik / LA Gym. an der Universität
Regensburg

SS 1976 Aufnahme des Medizinstudiums an der
Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

25.10.1980 Heirat mit der Krankenpflegeschülerin
Bärbel Klagge

04.05.1982 Ärztliche Prüfung

14.05.1982 Approbation zum Arzt

seit

07.06.1982 Assistenzarzt an der Anästhesie-Abteilung
des Stadtkrankenhauses Hof (ltd. Arzt
Dr. med. W. Heinrich)

